

(12) **UK Patent Application** (19) **GB** (11) **2 368 903** (13) **A**

(43) Date of A Publication 15.05.2002

(21) Application No 0027293.0

(22) Date of Filing 08.11.2000

(71) Applicant(s)
Proimmune Limited
 (Incorporated in the United Kingdom)
 Oxford Biobusiness Centre, Littlemore Park,
 LITTLEMORE, Oxford, OX4 4SS, United Kingdom

(72) Inventor(s)
Nikolai F Schwabe
Linda C Tan

(74) Agent and/or Address for Service
Page White & Farrer
 54 Doughty Street, LONDON, WC1N 2LS,
 United Kingdom

(51) INT CL⁷
G01N 21/59 // G01N 21/64 21/76

(52) UK CL (Edition T)
**G1A AA4 AG15 AG17 AKA ARUL AR7 AT2 AT20 AT23
 AT28**

(56) Documents Cited

GB 2351556 A	GB 2315131 A
GB 2014300 A	WO 99/58962 A1
WO 98/26277 A1	WO 98/13683 A1
US 5779978 A	US 5736410 A
US 5073029 A	

(58) Field of Search
 UK CL (Edition S) **G1A ACJF ACJX ADJM ADJP AKA
 ARUL**
 INT CL⁷ **G01N 21/05 21/59 21/64 21/76 33/53**
 Online: **WPI, EPODOC, JAPIO**

(54) Abstract Title
Analysis of biological and biochemical assays

(57) A biological and biochemical assay is analysed by outputting light from a plurality of test locations in a test sample (32) and simultaneously detecting light from each test location using an array of optical detectors (41) overlying the sample so that the position of each detector has a one to one correspondence with its respective test location. The sample (32) is located on the surface of an assay chip 30 received in a recess (11) of a substrate (10). A recess (21) in an adjoining substrate 20 forms a flow cell with inlet and outlet ports (25,26). Radiation from the sample passes through a flat transparent wall (27) of the substrate (20) to the detector array (41) without requiring an optical imaging system. Alternatively the detector array may have a corresponding array of lenses. A light source (50) may direct light to the sample to cause fluorescence of a marker in the sample.

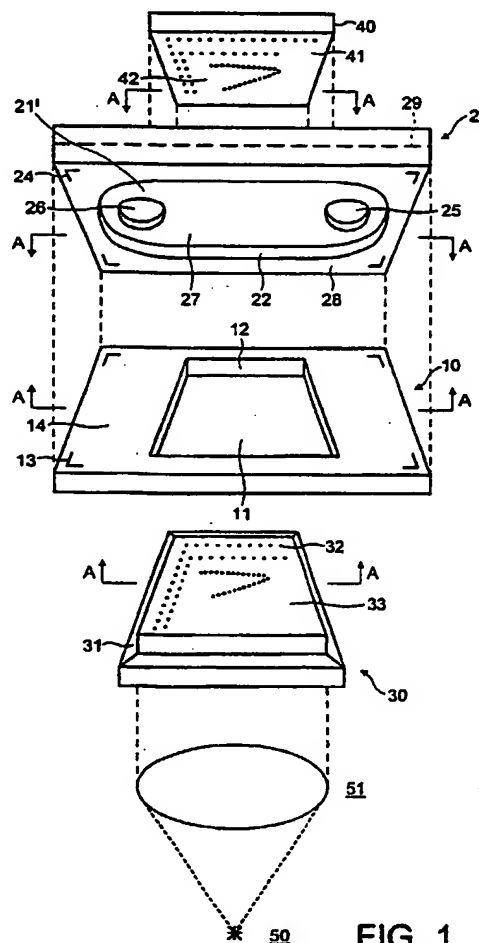


FIG. 1

EXPRESS MAIL LABEL

NO.: EV 481671870 US

At least one drawing originally filed was informal and the print reproduced here is taken from a later filed formal copy.

1 / 2

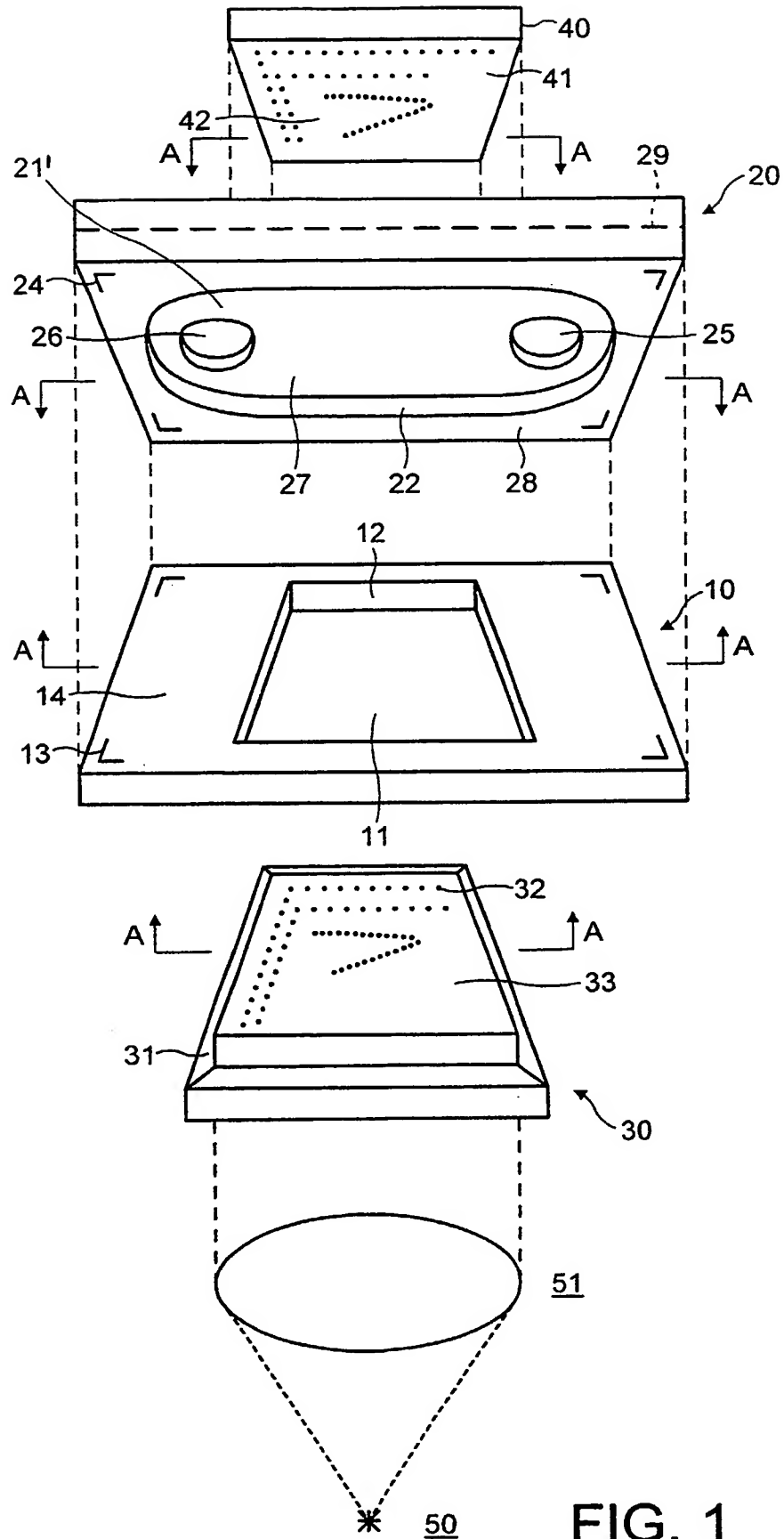


FIG. 1

Bevorzugt ist es ferner, daß der Temperierblock der Hybridisierungskammer gleichzeitig als Kühlelement ausgebildet ist.

Es ist weiterhin bevorzugt, daß das Volumen der Leitungswege zwischen dem Heizelement und dem Einlaßkanal der Hybridisierungskammer kleiner als das Volumen der Hybridisierungskammer selbst ist.

Die vorliegende Erfindung wird an Hand der beigefügten Ausführungen näher erläutert.

Es zeigen

Fig. 1a eine schematische Darstellung einer erfindungsgemäßen Vorrichtung in einem ersten Ausführungsbeispiel.

Fig. 1b eine schematische Darstellung einer erfindungsgemäßen Vorrichtung in einem zweiten Ausführungsbeispiel und

Fig. 2 eine perspektivische Ansicht einer Ausführungsform einer erfindungsgemäßen Hybridisierungskammer.

Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist eine wie in Fig. 1a,b schematisierte Vorrichtung zur Hybridisierung doppelsträngiger DNA-Proben an Oligomer-Arrays (Oligomer-Chips). Sie besteht aus einer geschlossenen und temperierbaren Hybridisierungskammer 1, 11, einer Pumpe 4, 14, einem Heizelement 3, 13 und einem Kühlelement 2, 12, die jeweils miteinander durch Flüssigkeit fördernde Leitungswege 5, 15 bevorzugt Kunststoffschläuche verbunden sind.

Die Hybridisierungskammer 1, 11 (Fig. 2) besteht bevorzugt aus zwei Teilen, einer Schale zur Aufnahme der Oligomer-Arrays 20 und einem Deckel 21, die bevorzugt durch einen Klappmechanismus aufeinandergedrückt werden können. Im Deckel befindet sich bevorzugt eine Aussparung für eine Dichtung, welche die Seitenwände der Kammer bildet. Der Deckel enthält auch die Durchführungen 22 für die Schlauchanschlüsse 5, 15 oder andere Förderkanäle für Flüssigkeiten. Die Kammer ist bevorzugt durch ein Peltier-Element temperierbar.

Bei der Pumpe handelt es sich bevorzugt um eine nach peristaltischen Prinzip arbeitende Schlauchpumpe oder aber um eine Kolbenpumpe, die zur automatisierten Durchführung des Verfahrens selbst programmierbar ist oder aber bevorzugt durch einen PC angesteuert werden kann. Die Probe wird zyklisch durch die Pumpe bewegt und zuerst im Heizelement denaturiert, im Kühlelement gekühlt und nachfolgend in der Hybridisierungskammer hybridisiert. Danach wird sie wieder in den Heizblock gepumpt und denaturiert. Dieser Vorgang wird zyklisch wiederholt und die Vorrichtung kann bevorzugt beliebig viele, mindestens aber zwei solche Zyklen automatisiert hintereinander durchführen.

Das Heizelement wie auch das Kühlelement bestehen bevorzugt aus einem Metallblock, dessen Temperatur besonders bevorzugt durch ein Peltier-Element geregelt wird. In einer bevorzugten Variante umschließen sowohl das Heizelement wie auch das Kühlelement jeweils einen Schlauch, durch den die Probenlösung gefördert wird. Alternativ kann das Heizelement ein Gefäß aufnehmen, bevorzugt aus Kunststoff bestehend (z.B. "Eppendorf-Cup"). Der Schlauch oder ein anderer Kanal reicht in diesem Fall bis auf den Boden dieses Gefäßes, um dort die Probenflüssigkeit anzusaugen. Die DNA-Probe kann so zum Kühlelement und zur Hybridisierungskammer gefördert werden. In einer weiteren Variante der Erfindung wird kein Kühlelement verwendet, sondern die schnelle Abkühlung der im Heizelement erhitzten Probe erfolgt durch den Kontakt mit der temperierten Hybridisierungskammer.

Die Hybridisierungskammer kann Oligomer-Chips aufnehmen, auf denen Oligonukleotide und/oder PNA-Oligomere (Peptide Nucleic Acids) immobilisiert sind. In einer besonders bevorzugten Variante nimmt die Hybridisierungskammer handelsübliche Objektträger auf, wie sie auch in

der Mikroskopie verwendet werden. Besonders bevorzugt beträgt das Volumen, das die Hybridisierungskammer bei eingelegtem Oligomer-Chip faßt, weniger als 200 µl.

Ein Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist auch ein Verfahren zur Hybridisierung doppelsträngiger DNA-Proben an Oligomer-Arrays unter Verwendung einer erfindungsgemäßen Vorrichtung.

Ein weiterer Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist somit ein Verfahren zur Hybridisierung doppelsträngiger DNA-Proben an Oligomer-Arrays (Oligomer-Chips), wobei man eine erfindungsgemäße Vorrichtung wie vorstehend beschrieben verwendet und wobei man die DNA-Probe zyklisch durch die Pumpe bewegt und zuerst im Heizelement denaturiert, im Kühlelement kühlt und nachfolgend in der Hybridisierungskammer hybridisiert und dann wieder in dem Heizelement denaturiert, wobei man mindestens zwei solcher Zyklen automatisiert nacheinander durchführt.

Ein weiterer Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist ein Kit, umfassend eine wie oben beschriebene Vorrichtung zur Hybridisierung doppelsträngiger DNA-Proben an Oligonucleotid-Arrays und einen oder mehrere Oligomer-Arrays oder Biochips und/oder Dokumentation zur Verwendung der Vorrichtung und/oder Pufferlösungen zur Durchführung der Hybridisierungen.

Bezugszeichenliste

- 1, 11 Hybridisierungskammer
- 2, 12 Kühlelement
- 3, 13 Heizelement
- 4, 14 Pumpe
- 5, 15 Leitungswege
- 6 Probengefäß
- 21 Deckel
- 22 Ein-/Auslaßkanäle
- 23 Oligomer-Array
- 24 Temperierblock
- 25 Kühlkörper

Patentansprüche

1. Vorrichtung zur Hybridisierung doppelsträngiger DNA-Proben an Oligomer-Arrays (Oligomer-Chips) umfassend mindestens eine in zwei Richtungen fördernde Pumpe (4, 14), eine geschlossene Hybridisierungskammer (1, 11), ein Kühlelement (2, 12) und ein Heizelement (3, 13), wobei die einzelnen Komponenten in der oben genannten Reihenfolge jeweils miteinander durch Flüssigkeiten fördernde Leitungswege (5, 15) verbunden sind.
2. Vorrichtung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die Pumpe (4, 14) eine peristaltische Pumpe, eine Schlauchpumpe oder eine Kolbenpumpe ist.
3. Vorrichtung nach einem der voranstehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß die Pumpe (4, 14) programmierbar oder durch ein Computer gesteuert ist.
4. Vorrichtung nach einem der voranstehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß die Hybridisierungskammer (1, 11) mindestens einen Deckel (21), mit durch diesen hindurch geführten Ein-/Auslaßkanälen (22), und einen Temperierblock (24), mit einem darauf auflegbaren oder festlegbaren Oligomer-Array (23), umfaßt.
5. Vorrichtung gemäß Anspruch 4, dadurch gekennzeichnet, daß weiterhin Kühlkörper (25) vorhanden ist, auf welchem der Temperierblock (24) angeordnet ist.

6. Vorrichtung nach einem der voranstehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß das Volumen der Hybridisierungskammer (1, 11) bei eingelegtem Oligomer-Chip weniger als 200 µl beträgt.
7. Vorrichtung nach einem der voranstehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß die Hybridisierungskammer (1, 11) für die Aufnahme handelsüblicher Objektträger oder Mikroskopobjektträger vorge-
richtet ist.
8. Vorrichtung nach einem der voranstehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß das Kühlelement (2, 12) den Leitungsweg (5, 15) fest umschließt.
9. Vorrichtung nach einem der voranstehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß das Heizelement (3, 13) den Leitungsweg (5, 15) fest umschließt und
daß der Leitungsweg (5, 15) mit seinem offenen Ende aus dem Heizelement herausragt.
10. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 8, dadurch gekennzeichnet, daß das Heizelement (3, 13) ein Probengefäß (6) mindestens teilweise umschließt und
das der Leitungsweg (5, 15) mit seinem offenen Ende in die in dem Probengefäß (6) vorhandenen Probenlösung eintaucht und daß dieser Leitungsweg (5, 15) gegebenenfalls bis auf die Innenseite des Bodens des Probengefäßes (6) geführt ist.
11. Vorrichtung nach einem der voranstehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß die Leitungswege (5, 15) Schläuche sind und vorzugsweise aus einem inerten Material, Silikonkautschuken, Polytetrafluorethylen, Polyvinylchlorid, Polyethylen und/oder
Edelstahl bestehen.
12. Vorrichtung nach einem der voranstehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß die Hybridisierungskammer (1, 11), das Kühlelement (2, 12), das Heizelement (3, 13) und der Temperierblock (24) unab-
hängig voneinander temperierbar sind.
13. Vorrichtung nach einem der voranstehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß der Temperierblock (24) der Hybridisierungskammer (1, 11) gleichzeitig als Kühlelement (2, 12) ausgebildet ist.
14. Vorrichtung nach einem der voranstehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß das Volumen der Leitungswege (5, 15) zwischen dem Heizelement (3, 13) und dem Einlaßkanal (22) der Hybridisierungskammer (1, 11) kleiner als das Volumen der Hybridisierungskammer (1, 11) selbst ist.
15. Verfahren zur Hybridisierung doppelsträngiger DNA-Proben an Oligomer-Arrays (Oligomer-Chips), wobei man eine Vorrichtung gemäß einem der voranstehenden Ansprüche verwendet und wobei man die
DNA-Probe zyklisch durch die Pumpe bewegt und zuerst im Heizelement denaturiert, im Kühlelement kühlt und nachfolgend in der Hybridisierungskammer hybridisiert und dann wieder in dem Heizelement denaturiert, wobei man mindestens zwei solcher Zyklen automatisiert nacheinander durchführt.

Hierzu 3 Seite(n) Zeichnungen

- Leerseite -

Fig. 1a

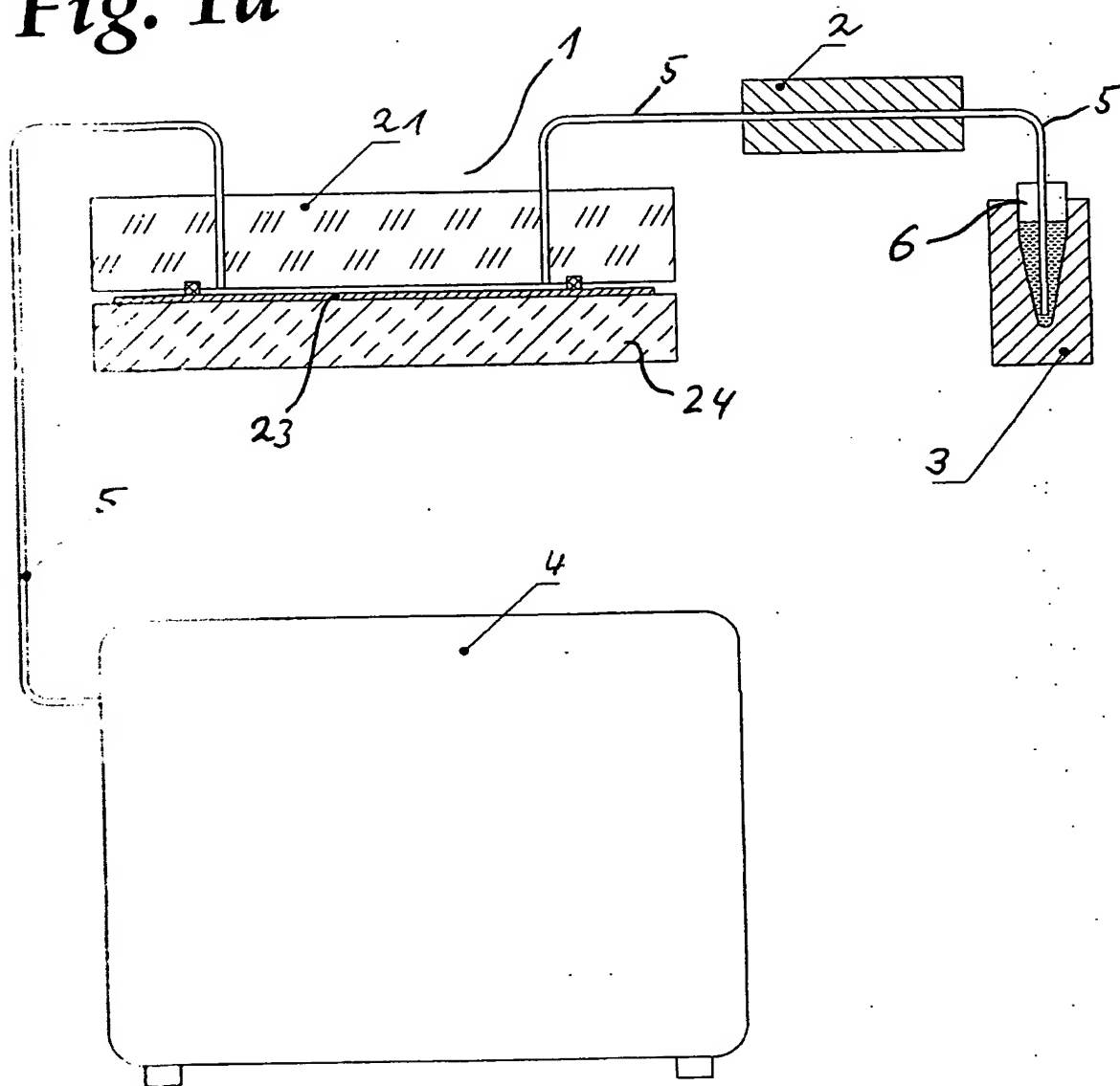
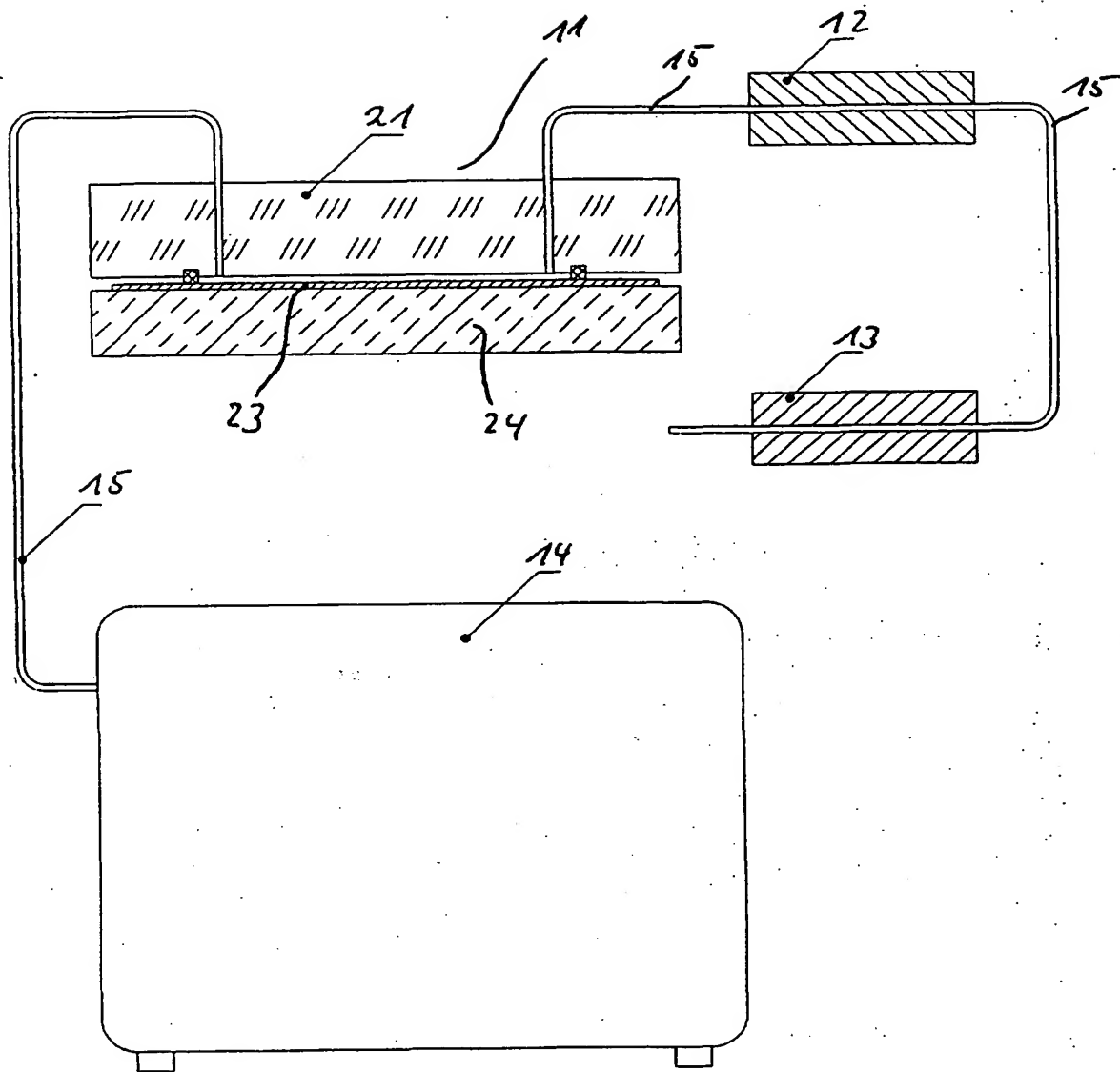


Fig. 1b



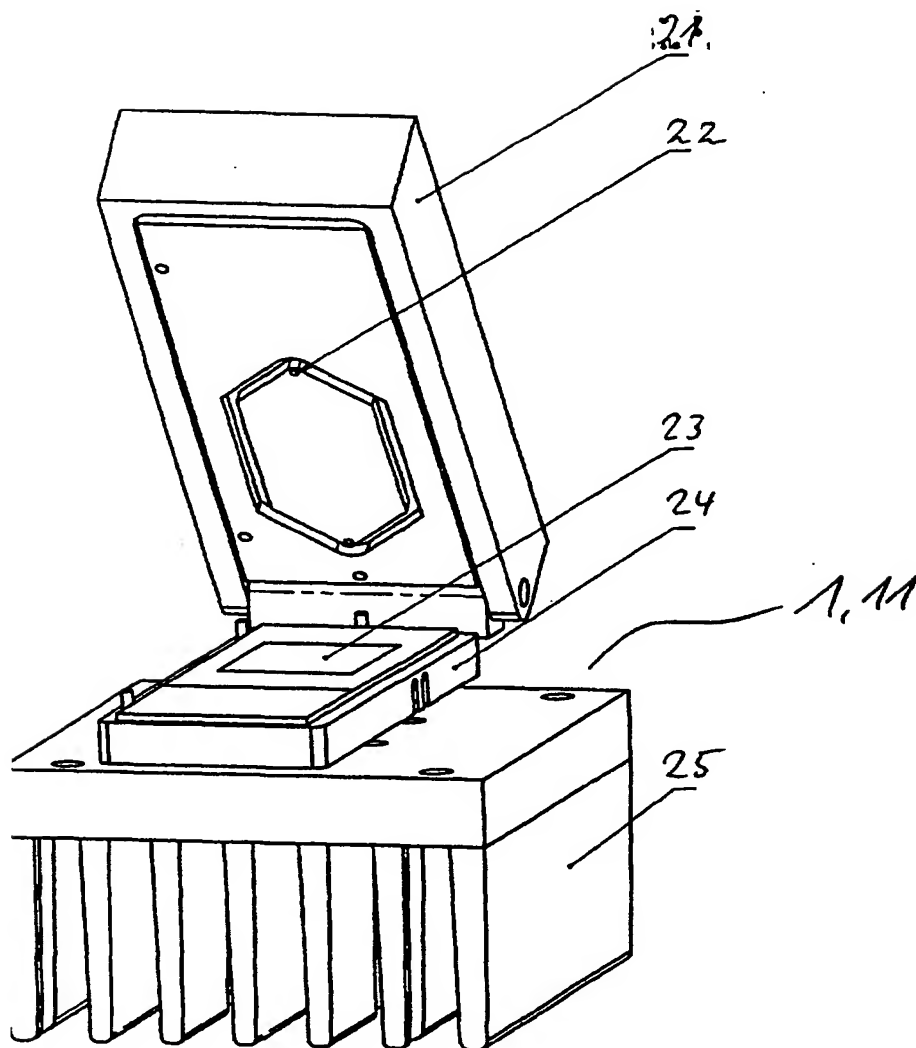


Fig. 2